

**PUB-NO:** DE019810499A1

**DOCUMENT-  
IDENTIFIER:** DE 19810499 A1

**TITLE:** Micro-titration plate suitable for a range of automated optical test procedures

**PUBN-DATE:** September 16, 1999

**INVENTOR-INFORMATION:**

NAME	COUNTRY
------	---------

PETERS, RALF-PETER	DE
--------------------	----

BACKES, HERBERT	DE
-----------------	----

UENAL, NEZIH	DE
--------------	----

**ASSIGNEE-INFORMATION:**

NAME	COUNTRY
------	---------

MICROPARTS GMBH	DE
-----------------	----

MERLIN MIKROBIOLOG DIAG GMBH	DE
------------------------------	----

**APPL-NO:** DE19810499

**APPL-DATE:** March 11, 1998

**PRIORITY-DATA:** DE19810499A (March 11, 1998)

**INT-CL** B01L003/00 , G01N033/48 , G01N001/28 , G01N033/80 , G01N033/15 ,  
**(IPC):** C12M001/34

**EUR-CL (EPC):** B01L003/00 , B01L003/00

**ABSTRACT:**

CHG DATE=20000103 STATUS=O>A micro-titration plate (1) is closed by a cover plate (2) on both sides and has a number of groups of sample chambers (3) with inlets (6) and connecting passages (7), each group having a filling inlet (8). Each group of sample chambers has breather zones (9) linked in groups to breather passages and a breather outlet (11). The level of fluid charged in each sample chamber is self-regulating, simplifying the filling process for the respective chamber.

BEST AVAILABLE COPY



⑪ **BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND**



**DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT**

⑫ **Offenlegungsschrift**  
⑬ **DE 198 10 499 A 1**

① Aktenzeichen: 198 10 499.5  
② Anmeldetag: 11. 3. 98  
③ Offenlegungstag: 16. 9. 99

⑤ Int. Cl.<sup>8</sup>:  
**B 01 L 3/00**  
G 01 N 33/48  
G 01 N 1/28  
G 01 N 33/80  
G 01 N 33/15  
C 12 M 1/34  
// G 01 N 21/63, 21/76

DE 198 10 499 A 1

⑭ Anmelder:

microParts Gesellschaft für Mikrostrukturtechnik  
mbH, 44227 Dortmund, DE; MERLIN Gesellschaft  
für mikrobiologische Diagnostika mbH, 53332  
Bornheim, DE

⑮ Erfinder:

Peters, Ralf-Peter, Dr., 51467 Bergisch Gladbach,  
DE; Backes, Herbert, Dipl.-Biol., 53424 Remagen,  
DE; Ünal, Nezi, Dipl.-Ing., 44227 Dortmund, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

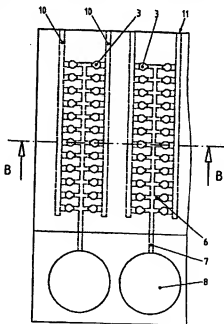
⑯ Mikrotiterplatte

⑰ In der mikrobiologischen Diagnostik und bei anderen Untersuchungsverfahren werden Mikrotiterplatten eingesetzt, bei denen die Verteilung der Nöpfchen an die Befüll- und Auswertgeräte angepaßt ist.

Mit zunehmender Verbreitung und Automatisierung derartiger Untersuchungsverfahren sind die bisher verwendeten Mikrotiterplatten weiterzuentwickeln.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte ist auf beiden Seiten verschlossen. Gruppen von Probenkammern sind über Zuleitungs- und Verbindungskanäle mit jeweils einer Einfüllstelle verbunden. An den Probenkammern sind Entlüftungsbereiche angeordnet, die gruppenweise an Entlüftungskanäle angeschlossen sind und mit einer Entlüftungsöffnung verbunden sind. In jeder Probenkammer stellt sich die Füllmenge von selbst ein. Das Befüllen der Probenkammern mit dem zu untersuchenden Fluid wird erleichtert. Diese Mikrotiterplatte ist beim Lagern und beim Gebrauch einfacher zu handhaben und erlaubt einen erhöhten Probendurchsatz.

Die Mikrotiterplatte ist für verschiedene optische Untersuchungsverfahren geeignet.



DE 198 10 499 A 1

## DE 198 10 499 A 1

1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft eine Mikrotrierplatte, die für mikrobiologische Untersuchungen sowie medizinische Analytik und Diagnostik verwendet wird.

Die Erfindung bezweckt, den Aufwand für die Herstellung derartiger Mikrotrierplatten und bei deren Verwendung zu vermindern.

In der mikrobiologischen Diagnostik werden Absorption-, Streuungs- und Lumineszenzanalysen als optische Verfahren eingesetzt, z. B. Transmissions-, Fluoreszenz- oder Trübungsmessungen. Dabei werden Mikrotrierplatten oder Teststreifen aus durchsichtigem Kunststoff mit einer Vielzahl von einseitig offenen Kammern oder tassenförmigen Vertiefungen benutzt. Die Platten oder Teststreifen haben z. B. 32 oder 96 Kammern oder Vertiefungen, die mit einem Reagenz belegt sind. Nach dem Beimpfen mit Bakteriensuspension werden die Mikrotrierplatten oder Teststreifen gegebenenfalls mit einer durchsichtigen Folie versiegelt oder mit einem Deckel verschlossen. Die Vertiefungen haben ein Füllvolumen zwischen 60 µl und 300 µl und werden mittels apparativer Füllmittel einzeln befüllt; dazu werden Pipetten mit einem Kanal oder mit 8, 48 oder 96 Kanülen benutzt.

Aus US 4 038 151 ist eine Probenplatte für ein automatisiertes optisches Untersuchungsverfahren bekannt, die zum Nachweisen und Auszählen von suspendierten Mikroorganismen und zum Bestimmen ihrer Empfindlichkeit gegen Antibiotika dient. Die Platte besteht aus einem steifen durchsichtigen Kunststoff. Sie ist etwa 60 mm breit, etwa 90 mm lang und etwa 3 mm dick und enthält z. B. 20 konische Probenkammern, die auf einer Plattenfläche (ohne Randbereiche) von etwa 25 cm<sup>2</sup> verteilt sind. Der rechnerische Flächenbedarf jeder Probenkammer beträgt etwa 125 mm<sup>2</sup>. Die Querschnittsfläche der Probenkammern ist auf der einen Plattenseite größer als auf der anderen Plattenseite. Neben jeder Probenkammer sind zwei Überlaufkammern angebracht, die auf der Seite jeder Probenkammer liegen, auf der sich ein Füllkanal für die betreffende Probenkammer befindet. Die Probenkammern sind über Schlitze mit den Überlaufkammern verbunden. Die Probenkammern, die Schlitze und die Überlaufkammern erstrecken sich über die gesamte Dicke der Probenplatte. Die Probenkammern sind gruppenweise über speziell angeordnete und geformte auf einer Plattenseite befindliche verzweigte Füllkanäle mit mindestens einer Füllkammer verbunden, die mit einem Septum verschlossen ist. Die Füllkanäle treten an der größeren Seite der konischen Probenkammer tangential ein. Die Form und die Fläche des Querschnitts jedes Füllkanals ändert sich an jeweils einer Stelle sprunghaft. An diesen Stellen geht - in Strömungsrichtung gesehen - ein flacher und breiter Kanal jeweils in einen tiefen und schmalen Kanal über. Die auf einer Plattenseite angeordneten Füllkanäle können länger sein als die jeweils kürzeste Verbindung zwischen Probenkammer und Füllkammer, um die Rückdiffusion von in der Suspension vorhandenen Bestandteilen zu erschweren. Die Platte ist - bis auf einen Randbereich - auf beiden Seiten mit je einer semipermeablen Folie verklebt, die die Probenkammern, die Überlaufkammern, die Schlitze und die auf der einen Seite der Platte angebrachten Füllkanäle sowie eine Seite der Füllkammer bedeckt. Die Probenkammern sind mit einer eingetrockneten Schicht einer Reagenzsubstanz belegt. Auf einer Plattenseite sind in der Nähe des Plattenrandes flache achtförmige Vertiefungen angebracht, in die zur Kennzeichnung der Probenplatte maschinell lesbare Ziffern von Hand eingetragen werden können.

Nach dem Evakuieren aller Kanäle und Kammern in der Probenplatte wird die zu untersuchende Suspension aus einem außerhalb der Platte befindlichen Behälter mittels einer

2

Kanüle durch das Septum hindurch von der Kante der Platte in die Füllkammer geleitet und strömt durch die Füllkanäle in die Probenkammern und in die Überlaufkammern. Die in die Probenkammer eingeströmte Suspension und die Reagenzschicht stehen in Kontakt mit der auf der Folie angebrachten Klebstoffschicht.

Bei der optischen Untersuchung der Proben in den Probenkammern steht die Probenplatte vertikal im Meßgerät. In dieser Lage treten die Füllkanäle in Bezug auf die Richtung der Schwerkraft von oben in die Probenkammern ein, und die Überlaufkammern liegen oberhalb der Probenkammern. Damit können sich in der Probenkammer gegebenenfalls vorhandene oder bei einer Reaktion oder einem Stoffwechsel entstehende Gasblasen in den Überlaufkammern sammeln, ohne die optische Untersuchung der Proben zu stören.

Aus US 5 670 375 ist eine Probenplatte bekannt, deren Luft aus den Kavitäten simuliert beimpft werden. Nachdem die Luft aus den Kavitäten abgesaugt wurde, strömt das zu untersuchende Fluid aus einem außerhalb der Probenplatte befindlichen Behälter durch ein Verbindungsrohr in die Kavitäten und füllt sie.

Mit zunehmender Verbreitung und Automatisierung derartiger Untersuchungsverfahren ist es erforderlich, die bisher verwendeten Mikrotrierplatten weiterzuentwickeln.

Damit stellt sich die Aufgabe, eine Mikrotrierplatte anzugeben, die auf einer vorgegebenen Plattenfläche eine größere Anzahl von Probenkammern enthält als die bekannten Platten, die kostengünstig herzustellen ist, die einfach zu handhaben ist, und die an die Forderungen der Mikrobiologie, an die medizinischen Untersuchungstechnik sowie an den Aufbau der eingesetzten Meßvorrichtung angepaßt ist.

Die Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch eine Mikrotrierplatte, die aus einer Grundplatte und einer Deckplatte besteht, und die gekennzeichnet ist durch

- eine Vielzahl von Probenkammern mit einem Boden in der Grundplatte,
- jeweils einen Zuleitungs kanal zu jeder Probenkammer, der in die Probenkammer mündet, und dessen anderes Ende in einen Verbindungs kanal mündet, der jeweils einer Gruppe von Probenkammern zugeordnet ist und mit einer Einfüllstelle in Verbindung steht, und
- jeweils einen Entlüftungsbereich an jeder Probenkammer, der mit einer Entlüftungsöffnung in Verbindung steht,
- mindestens eine Entlüftungsöffnung für jede Gruppe von Probenkammern,
- mindestens eine Einfüllstelle, die an mindestens einen Verbindungs kanal angeschlossen ist, und
- eine Deckplatte, die die offene Seite der Probenkammern in der Grundplatte abdeckt, und die mit der Grundplatte zwischen allen Probenkammern flüssigkeitsdicht verbunden ist.

Der Zuleitungs kanal mündet bevorzugt in radialer Richtung in die Probenkammer.

In der Wand jeder Probenkammer kann eine Einlauffrinne angebracht sein, die am Ende des zugehörigen Zuleitungs kanals beginnt, und die bevorzugt bis zum Boden der Probenkammer reicht. Der Querschnitt der Einlauffrinne kann zum Boden der Probenkammer hin abnehmen.

Die Zuleitungs kanäle und die Verbindungs kanäle können in ihrer Gesamtheit entweder in der Deckplatte oder in der Grundplatte angebracht sein, und zwar jeweils in der Seite der Deckplatte oder der Grundplatte, die der Grundplatte beziehungsweise der Deckplatte zugekehrt ist. Ferner können einige Kanäle in der Deckplatte und andere Kanäle in der Grundplatte angebracht sein, wobei die Kanäle nach dem

# DE 198 10 499 A 1

3

4

Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte miteinander in Verbindung stehen.

Die Entlüftungsbereiche sind jeweils am offenen Ende jeder Probenkammer in der Grundplatte angebracht. Diese Bereiche können mit jeweils einer Entlüftungsoffnung in der Deckplatte in Verbindung stehen. Ferner können die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern durch einen Entlüftungskanal verbunden sein, dessen eines Ende am Rand der Mikrotrierplatte offen ist und die Entlüftungsoffnung bildet. Ein Entlüftungskanal kann allein oder gemeinsam mit anderen Kanälen entweder ganz in der Grundplatte, ganz in der Deckplatte oder zum Teil in der Grundplatte und zum Teil in der Deckplatte angebracht sein. Am Ende eines Entlüftungsbereiches (in Strömungsrichtung gesehen) wird der Strömungsquerschnitt sprunghaft größer. Der Entlüftungskanal kann tiefer als der Entlüftungsbereich sein.

Die Wände der Probenkammern stehen bevorzugt senkrecht zur Grundplatte, sie können jedoch auch zur Grundplatte geneigt sein. In diesem Fall ist der Querschnitt der Probenkammern bevorzugt am offenen Ende größer als am Boden. Die Probenkammern können einen runden, rechteckigen oder mehrseitigen Querschnitt haben. Das Volumen jeder Probenkammer kann von 0,01 bis 10 µl betragen.

Die Mikrotrierplatte kann von 50 bis 10 000 Probenkammern in der Grundplatte enthalten bei bis zu 35 Probenkammern pro Quadratzentimeter Plattenfläche.

Die Zuleitungskanäle haben eine Breite und eine Tiefe von 10 µm bis 500 µm. Die Verbindungskanäle haben eine Breite und eine Tiefe von 10 µm bis 1000 µm.

Die Einfüllstellen können in der Grundplatte oder in der Deckplatte angebracht sein. Ihr Volumen kann größer sein als das Volumen der an jede Einfüllstelle angeschlossenen Verbindungskanäle, der zugehörigen Zuleitungskanäle und der zugehörigen Gruppe von Probenkammern. In diesem Fall ist es hinreichend, die jeweils benötigte Fluidmenge auf einmal in die jeweilige Einfüllstelle zu geben. Wenn die Einfüllstellen während der Befüllzeit der Probenkammern jeweils portionsweise oder kontinuierlich mit dem zu untersuchenden Fluid versorgt werden, kann das Volumen jeder Einfüllstelle kleiner sein als es bei Einmal-Füllung erforderlich ist. Es kann zweckmäßig sein, in der Wand von Einfüllstellen, die in der Grundplatte angebracht sind, jeweils eine Auslauffrinne vorzusehen, die vom Boden der Einfüllstelle bis zur Mündung eines Verbindungskanals in die Einfüllstelle reicht. Die Auslauffrinne erleichtert den praktischen vollständigen Übergang des Fluids aus der Einfüllstelle in den Verbindungskanal.

Die Mikrotrierplatte kann für Durchlicht-Messungen aus durchsichtigem Material wie Kunststoff oder Glas und für Lumineszenz-Messungen aus durchsichtigem oder undurchsichtigem Material wie Metall oder Silizium bestehen. Grundplatte und Deckplatte können aus demselben oder unterschiedlichem Material bestehen.

Die Höhe der Probenkammern und damit die Dicke der vom Licht durchstrahlten Fluidschicht kann an das optische Auswertungsverfahren angepasst werden. Innerhalb einer Mikrotrierplatte können Probenkammern mit unterschiedlicher Höhe vorhanden sein.

Eine erfindungsgemäße typische Mikrotrierplatte (entsprechend Fig. 1a bis 1d) hat eine 3,5 mm dicke Grundplatte und eine 0,5 mm dicke Deckplatte. Die runden Probenkammern sind 3,0 mm tief, haben einen Durchmesser von 800 µm und ein Volumen von 1,5 Mikroliter. Die Zuleitungskanäle und die Verbindungskanäle haben einen rechteckigen Querschnitt, die Zuleitungskanäle sind 400 µm breit und 380 µm tief. Die Verbindungskanäle sind 500 µm breit und 380 µm tief. Die Entlüftungsbereiche sind (bei rechteck-

kigem Querschnitt) 420 µm breit und 380 µm tief. Die Entlüftungskanäle sind 500 µm breit und 1000 µm tief. Auf einer Plattenfläche (ohne Randbereiche) von 21,5 mm x 25 mm, also 540 mm<sup>2</sup>, befinden sich 96 gleichzeitig befüllbare Probenkammern. Der rechnerische Flächenbedarf jeder Probenkammer beträgt also 5,6 mm<sup>2</sup>. Das entspricht etwa 5% des rechnerischen Flächenbedarfs einer Probenkammer bei einer bekannten Mikrotrierplatte.

Das zu untersuchende Fluid (Lösung oder Suspension) wird in einer bestimmten Menge in die Einfüllstelle eines aus Grundplatte mit verbundener Deckplatte bestehenden Mikrotrierplatte gegeben. Das Fluid strömt aufgrund der Kapillarkraft durch die Verbindungskanäle und Zuleitungskanäle gleichzeitig zu allen Probenkammern, die mit der Einfüllstelle in Verbindung stehen, und durch die gegebenenfalls vorhandene Einlauffrinne in die Probenkammer. Die Kapillarkraft der Einlauffrinne kann das Fluid aus dem Zuleitungskanal "herausaugen". Sobald der Boden der Probenkammer benetzt ist, reicht die Kapillarkraft der Probenkammer aus, um sie vollständig zu füllen. Die Strömung des Fluids ist beendet, sobald das Fluid den Entlüftungsbereich erreicht hat und der Strömungsquerschnitt des anschließenden Entlüftungskanals oder der Strömungsquerschnitt der Entlüftungsoffnung in der Deckplatte sprunghaft größer wird. Damit stellt sich die in jede Probenkammer einströmende Fluidmenge selbsttätig ein. Während des Befüllvorganges wird die in den Kanälen und Probenkammern enthaltene Luft verdrängt und entweicht durch die Entlüftungsoffnung.

Nach dem Befüllen aller Probenkammern können die Zuleitungskanäle jeweils in der Nähe jeder Probenkammer an einer Stelle zugeschweißt werden, wodurch alle Probenkammern flüssigkeitsig voneinander getrennt werden. Dadurch wird die Diffusion von Bestandteilen des Fluids zwischen den Probenkammern bei weiterer Behandlung der Mikrotrierplatte, z. B. beim Bebrüten einer Bakteriensuspension, verhindert.

Falls die Mikrotrierplatte zur Untersuchung einer Bakteriensuspension benutzt wird, die nach dem Einfüllen in die Probenkammer bebrütet wird, kann bevorzugt für jede Probenkammer eine Entlüftungsoffnung vorgesehen werden, die zum Versorgen der Bakteriensuspension mit Sauerstoff dient. Bei anderen Untersuchungen, bei denen keine Reaktionsgase entstehen, können die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern mit jeweils einer Entlüftungsoffnung verbunden werden, und nach dem Befüllen der Probenkammern können die Entlüftungsoffnung und die Einfüllstelle zusätzlich verschweißt werden, wodurch die Mikrotrierplatte hermetisch verschlossen wird.

Die strukturierte Grundplatte und gegebenenfalls die strukturierte Deckplatte der Mikrotrierplatte können aus Kunststoff, wie Polystyrol oder Poly(methyl-methacrylat), durch Abformen jeweils eines Formeinsatzes im Mikrospritzgussverfahren hergestellt werden. Die Struktur des Formeinsatzes ist komplementär zur Struktur der strukturierten Grundplatte oder der strukturierten Deckplatte. Der Formeinsatz kann durch Lithographie und Galvanoformung, durch Mikroerodieren oder durch mikromechanische Bearbeitung wie Diamantfräsen hergestellt werden.

Weiter können die strukturierte Grundplatte und gegebenenfalls die strukturierte Deckplatte aus einem photoätzbaren Glas (z. B. von der Firma Schott) oder aus Silizium durch anisotropes Ätzen oder durch mikromechanische Bearbeitungsverfahren hergestellt werden.

Deckplatte und Grundplatte werden an ihren Berührungsfleichen miteinander verbunden, z. B. durch Ultraschallschweißen. Alle Kanäle und Probenkammern sind flüssigkeits- und gasdicht voneinander getrennt.

## DE 198 10 499 A 1

5

6

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte hat folgende Vorteile:

- Sie enthält eine wesentliche größere Anzahl von Probenkammern mit geringerem Volumen jeder Probenkammer und einer dichteren Packung der Probenkammern in der Platte als herkömmliche Platten.
- Sie ist bei gegebener Anzahl von Probenkammern kleiner als bekannte Platten.
- Sie erlaubt einen größeren Probendurchsatz.
- Das Befüllen der Probenkammern mit dem zu untersuchenden Fluid geht schneller und ist bei geringerem apparativen Aufwand einfacher als bei herkömmlichen Platten.
- Zum Befüllen der Probenkammern ist weder ein Überdruck an der Einfüllstelle noch ein Unterdruck an der Entlüftungsföhrung erforderlich.
- Die Einfüllstelle ist ein einfacher gebaut als bekannte Vorrichtungen, mit denen die Probenkammern einzeln befüllt werden.
- Die Einfüllstellen werden mittels handelsüblicher Geräte befüllt, an die sie nach Abmessungen und Volumen angepaßt sind.
- Die abgedeckten Probenkammern werden vollständig mit dem zu untersuchenden Fluid gefüllt. Das Füllvolumen jeder Probenkammer ist automatisch festgelegt; eine Dosiervorrichtung für jede einzelne Probenkammer ist nicht erforderlich.
- Das in den Probenkammern befindliche Fluid ist während einer gegebenenfalls weiteren Behandlung und während der Messung durch die mit der Grundplatte dicht verbundene Deckplatte vor dem Verdunsten wirksam geschützt.
- An den beiden Böden der Probenkammern ist keine Klebstoffschicht vorhanden.
- Die Herstellkosten sind kleiner als bei herkömmlichen Platten.
- Der Materialbedarf für die Belegung der Probenkammern mit einem Reagenz, der Bedarf an Untersuchungsmaterial, z. B. Bakterien suspension, Blutproben oder Wirkstoffen, und damit die Kosten sind kleiner als bei Platten mit größerem Volumen der Probenkammern.
- Für das zu untersuchende Fluid, z. B. eine Bakterien suspension, können Einfüllstellen vorgesehen werden, die sich in der Grundplatte oder in der Deckplatte befinden, und in die gegebenenfalls mehrere Verbindungskanäle münden.
- Die mikrobiologische, mikrochemische oder bakteriologische Untersuchung der in die Mikrotiterplatte eingebrachten Proben ist vollautomatisierbar bei vermindertem Aufwand für die Meßgeräte.
- Die Mikrotiterplatten können bei normaler Zimmertemperatur gelagert werden. Der Platzbedarf bei der Lagerung ist deutlich geringer als bei herkömmlichen Mikrotiterplatten
- Die Platten sind, analog zu den bekannten Platten, für einmaligen Gebrauch bestimmt. Wegen der größeren Packungsdichte der Probenkammern ist die zu entsorgende Menge an gebrauchten Mikrotiterplatten geringer als bei Verwendung herkömmlicher Mikrotiterplatten.

Die Probenkammern in der Mikrotiterplatte können mittels einer angepaßten miniaturisierten Vorrichtung mit einem chemisch oder biologisch wirksamen Reagenz belegt werden, das nach dem Einbringen des Reagenzfluids eingetrocknet wird und auf dem Boden und auf den Wänden der

Probenkammern haftet. Als Reagenzien können beispielsweise Oligopeptid- $\beta$ -NA-Derivate, p-Nitrophenylacetat, Zucker für Fermentationen und andere Untersuchungen, organische Säuren, Aminosäuren für Assimilationsuntersuchungen, Decarboxylase-Substrate, Antibiotika, Antimycotica, Nährböden, Markersubstanzen, Indikatorsubstanzen und andere Substanzen verwendet werden.

Die erfindungsgemäße und gegebenenfalls mit Reagenz belegte Mikrotiterplatte kann für die biochemischen Nachweis und die Empfindlichkeitsprüfung von klinisch bedeutsamen Mikroorganismen verwendet werden. In einem vollautomatisierten und miniaturisierten System wird eine definierte Suspension von Mikroorganismen hergestellt, mit der die Mikrotiterplatte beschickt wird. Die beimpfte Platte wird - gegebenenfalls nach einer weiteren Behandlung - mittels eines optischen Verfahrens vermessen. Die dabei erhaltenen Ergebnisse werden rechnergestützt erfaßt und mittels angepaßter Verfahren mathematisch ausgewertet und beurteilt.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte kann in der Blutgruppen-Serologie, der klinische Chemie, beim mikrobiologischen Nachweis von Mikroorganismen, bei der Prüfung der Empfindlichkeit von Mikroorganismen gegen Antibiotika, in der Mikroanalytik sowie bei der Prüfung von Wirkstoffen verwendet werden.

Die erfindungsgemäße Mikrotiterplatte wird an Hand der folgenden Figuren weiter erläutert.

Fig. 1a zeigt einen Ausschnitt aus einer Mikrotiterplatte von oben durch die Deckplatte hindurch gesehen. Dieser Ausschnitt enthält zwei Gruppen von Probenkammern (3), wobei jeweils 24 Probenkammern über je einen Zuleitungskanal (6) an einen Verbindungskanal (7) angeschlossen sind. Jeder Verbindungskanal erstreckt sich bis zur Mitte einer Einfüllstelle (8). Neben jeder Probenkammer (3) ist bevorzugt gegenüber der Mündung des Zuleitungskanals (6) ein Entlüftungsbereich (9) angebracht. Die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern stehen mit jeweils einem Entlüftungskanal (10) in Verbindung. Das Ende jedes Entlüftungskanals (10) ist die Entlüftungsföhrung (11) am Rand der Grundplatte.

Fig. 1b zeigt die Mikrotiterplatte gemäß Fig. 1a in Seitenansicht. Die Grundplatte (1) ist mit der gestuften Deckplatte (2) abgedeckt. Die Grundplatte enthält Probenkammern (3) mit Boden (4) sowie in ihrer der Deckplatte zugewandten Seite Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7). Die Deckplatte (2) enthält in ihrem dickeren Teil Einfüllstellen (8), die diesen Teil der Deckplatte in ihrer gesamten Dicke durchdringen. Nach dem Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte stehen die Verbindungskanäle (7) mit dem Einfüllstellen (8) in Verbindung. Der Entlüftungskanal (10) mündet in der Entlüftungsföhrung (11) am Rand der Grundplatte.

Fig. 1c zeigt einen Querschnitt durch die Mikrotiterplatte an der in Fig. 1a mit A-A gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Probenkammern (3) mit Boden (4), Verbindungskanäle (7), Zuleitungskanäle (6) sowie Einlauffröhen (5) in der Grundplatte (1). Gegenüber der Mündung des Zuleitungskanals (6) ist der Entlüftungsbereich (9) angebracht, der mit dem Entlüftungskanal (10) in Verbindung steht.

Fig. 1d zeigt in vergrößerter Darstellung von oben gesehen eine Probenkammer (3), einen Zuleitungskanal (6), eine Einlauffröhe (5), einen Entlüftungsbereich (9) und einen Entlüftungskanal (10).

Fig. 2a zeigt einen Ausschnitt aus einer anderen Ausführungsform der Mikrotiterplatte von oben durch die Deckplatte hindurch gesehen. Dargestellt sind Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7) und Einfüllstellen (8). Bei dieser Ausführungsform reichen die Ver-

## DE 198 10 499 A 1

7

8

bindungskanäle (7) bis zum Rand der Einfüllstellen (8). Die Entlüftungsbereiche einer Gruppe von Probenkammern (3) sind mit jeweils einem Entlüftungskanal (10) verbunden, der am Rand der Grundplatte in der Entlüftungsöffnung (11) mündet.

Fig. 2b zeigt die Mikroiterplatte gemäß Fig. 2a in Seitenansicht. Die Grundplatte (1) ist mit der gestuften Deckplatte (2) abgedeckt. Die Grundplatte enthält mit einem Boden (4) versehene Probenkammern (3). Die Deckplatte enthält in ihrer der Grundplatte zugewandten Seite Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) sowie in ihrem dickeren Teil Einfüllstellen (8), die diesen Teil der Deckplatte in ihrer gesamten Dicke durchdringen. Nach dem Zusammenfügen von Grund- und Deckplatte steht jeder Zuleitungskanal mit jeweils einer Probenkammer in Verbindung. Der Entlüftungskanal (10) mündet am Rand der Grundplatte in der Entlüftungsöffnung (11).

Fig. 2c zeigt einen Querschnitt durch die Mikroiterplatte an der in Fig. 2a mit B-B gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Probenkammern (3) mit Boden (4), Verbindungskanäle (7), Zuleitungskanäle (6), Einlauffröhen (5), Entlüftungsbereiche (9) und Entlüftungskanäle (10).

Fig. 3a zeigt einen Ausschnitt aus einer weiteren Ausführungsform der Mikroiterplatte von oben durch die Deckplatte hindurch gesehen. Dargestellt sind Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7) und Einfüllstellen (16). Bei dieser Ausführungsform reichen die Verbindungskanäle (7) bis zum Rand der Einfüllstellen. Die Deckplatte erstreckt sich in diesem Fall bis zur Linie (15); sie deckt den Teil der Mikroiterplatte ab, der Probenkammern, Zuleitungskanäle und Verbindungskanäle enthält. An der Mündung des Verbindungskanals (7) in die Einfüllstelle (8) schließt sich in der Wand der Einfüllstelle eine Auslauffröhe (18) an, die bis zum Boden der Einfüllstelle reicht. Die Entlüftungskanäle (10) münden in der Entlüftungsöffnung (11) am Rand der Grundplatte.

Fig. 3b zeigt einen Querschnitt durch die Mikroiterplatte an der in Fig. 3a mit C-C gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Grundplatte (1) und Deckplatte (2), die in diesem Fall eine Folie ist. Die Grundplatte enthält mit einem Boden (4) versehene Probenkammern (3) mit Einlauffröhen (5) sowie Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7), Entlüftungsbereiche (9) und Entlüftungskanäle (10).

Fig. 3c zeigt einen Querschnitt durch die Mikroiterplatte an der in Fig. 3a mit D-D gekennzeichneten Linie. Die Grundplatte (1) enthält mit einem Boden (17) versehene Einfüllstellen (16), in deren Wand eine Auslauffröhe (18) angebracht ist, die vom Boden der Einfüllstelle bis zur Einmündung des Verbindungskanals (7) in die Einfüllstelle reicht.

Fig. 3d zeigt analog zu Fig. 1d in vergrößerter Darstellung von oben gesehen eine Probenkammer (3), einen Zuleitungskanal (6), eine Einlauffröhe (5), einen Entlüftungsbereich (9) und einen Entlüftungskanal (10).

Fig. 3e zeigt eine andere Ausführungsform der Probenkammer in vergrößerter Darstellung von oben gesehen analog zu Fig. 3d. Die Probenkammer (12) hat einen quadratischen Querschnitt. Die Einlauffröhe (13) wird durch eine Kante der Probenkammer gebildet. Der Entlüftungsbereich (9) steht mit dem Entlüftungskanal (10) in Verbindung.

Fig. 4a zeigt einen Ausschnitt aus einer weiteren Ausführungsform der Mikroiterplatte. Hier ist die Ansicht der nicht abgedeckten Grundplatte von oben gesehen dargestellt. Die Grundplatte (1) enthält Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) sowie Entlüftungsbereiche (9), die im Bereich des oberen Randes der Probenkammer angebracht sind. Bei dieser Ausführungsform ist in der Wand der Probenkammer keine Einlauffröhe

vorgesehen.

Fig. 4b zeigt einen Querschnitt durch die Grundplatte an der in Fig. 4a mit E-E gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind mit Boden (4) versehene Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6), Verbindungskanäle (7) und Entlüftungsbereiche (9).

Fig. 5a zeigt von oben gesehen die Ansicht der Deckplatte für die in Fig. 4a dargestellte Grundplatte. Diese Deckplatte (2) enthält Öffnungen (14) und Einfüllstellen (8), die als an beiden Enden offene Zylinder (19) aus der Deckplatte hervorragen.

Fig. 5b zeigt einen Querschnitt durch die Deckplatte an der in Fig. 5a mit F-F gekennzeichneten Linie. Dargestellt sind Einfüllstellen (8), die als an beiden Enden offene Zylinder (19) aus der Deckplatte (2) hervorragen. Nach dem Zusammenfügen einer Grundplatte gemäß Fig. 4a mit einer Deckplatte gemäß Fig. 5a stehen die Verbindungskanäle (7) in der Grundplatte mit Einfüllstellen (8) in der Deckplatte in Verbindung. Ferner stehen die Entlüftungsbereiche (9) in der Grundplatte mit Öffnungen (14) in der Deckplatte in Verbindung.

## Patentsprüche

1. Mikroiterplatte, bestehend aus einer Grundplatte (1) und einer Deckplatte (2), gekennzeichnet durch
  - eine Vielzahl von Probenkammern (3) mit einem Boden (4) in der Grundplatte, und
  - jeweils einen Zuleitungskanal (6) zu jeder Probenkammer, der in die Probenkammer (3; 12) mündet, und dessen anderes Ende in einen Verbindungskanal (7) mündet, der jeweils einer Gruppe von Probenkammern zugeordnet ist und mit einer Einfüllstelle (8; 16) in Verbindung steht, und
  - jeweils einen Entlüftungsbereich (9) an jeder Probenkammer, und
  - mindestens eine Entlüftungsöffnung (11; 14) für jede Gruppe von Probenkammern, die mit mindestens einem Entlüftungsbereich (9) in Verbindung steht, und
  - mindestens eine Einfüllstelle (8; 16), die an mindestens einen Verbindungskanal (7) angeschlossen ist, und
  - eine Deckplatte (2), die die offene Seite der Probenkammern in der Grundplatte abdeckt, die sich mindestens über den Bereich der Mikroiterplatte erstreckt, in dem sich Probenkammern (3), Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) befinden, und die mit der Grundplatte (1) zwischen allen Probenkammern flüssigkeitsdicht verbunden ist.
2. Mikroiterplatte nach Anspruch 1, gekennzeichnet durch
  - eine Einlauffröhe (5; 13) in der Wand jeder Probenkammer (3), wobei jede Einlauffröhe (5; 13) am Ende eines Zuleitungskanals (6) beginnt und bevorzugt bis zum Boden der Probenkammer reicht.
3. Mikroiterplatte nach den Ansprüchen 1 und 2, gekennzeichnet durch
  - einen Zuleitungskanal (6), der in radialer Richtung in die Probenkammer (3) mündet.
4. Mikroiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 3, gekennzeichnet durch
  - eine Auslauffröhe (18) in der Wand jeder Einfüllstelle (16), die in der Grundplatte (3) angebracht ist, wobei die Auslauffröhe (18) vom Boden (17) der Einfüllstelle bis zur Mündung eines

## DE 198 10 499 A 1

9

10

- Verbindungskanal (7) in die Einfüllstelle reicht.
5. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 4, gekennzeichnet durch
- Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) in der Seite der Deckplatte (2), die der Grundplatte (1) zugekehrt ist.
6. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 4, gekennzeichnet durch
- Zuleitungskanäle (6) und Verbindungskanäle (7) in der Seite der Grundplatte (1), die der Deckplatte (2) zugekehrt ist.
7. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- Entlüftungsöffnungen (14) in der Deckplatte (2), die die Deckplatte durchdringen, und die mit dem Entlüftungsbereich (9) an jeweils einer Probenkammer (3) in der Grundplatte in Verbindung stehen.
8. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- mindestens einen Entlüftungskanal, der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Mikrotiterplatte offen ist und die Entlüftungsöffnung bildet,
  - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches.
9. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- mindestens einen Entlüftungskanal (10) in der Grundplatte (1), der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Grundplatte (1) offen ist und die Entlüftungsöffnung (11) bildet,
  - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals (10) größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches (9).
10. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 6, gekennzeichnet durch
- mindestens einen Entlüftungskanal, der zum Teil in der Grundplatte und zum Teil in der Deckplatte angebracht ist und der alle Entlüftungsbereiche (9) einer Gruppe von Probenkammern (3) miteinander verbindet, und dessen eines Ende am Rand der Grundplatte und/oder am Rand der Deckplatte offen ist und die Entlüftungsöffnung bildet,
  - wobei der Strömungsquerschnitt des Entlüftungskanals größer ist als der Strömungsquerschnitt eines Entlüftungsbereiches.
11. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 10, gekennzeichnet durch
- Probenkammern (3), deren Wände senkrecht zur Grundplatte stehen,
  - Probenkammern (3) mit rundem, rechteckigem oder mehrseitigem Querschnitt,
  - Probenkammern (3) mit ein Volumen von jeweils 0,01 Mikroliter bis 10 Mikroliter.
12. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 11, gekennzeichnet durch
- 50 bis 10 000 Probenkammern (3) in der Grundplatte.
13. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 12, gekennzeichnet durch
- Zuleitungskanäle (6) mit einer Breite von 10 µm bis 500 µm und einer Tiefe von 10 µm bis

500 µm und

- Verbindungskanäle (7) mit einer Breite von 10 µm bis 1000 µm und einer Tiefe von 10 µm bis 1000 µm,

14. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 13, gekennzeichnet durch

- Einfüllstellen (8; 16) mit einem Volumen, das jeweils mindestens dem Volumen der angeschlossenen Verbindungskanäle (7), der zugehörigen Zuleitungskanäle (6) und der zugehörigen Gruppe von Probenkammern (3) entspricht.

15. Mikrotiterplatte nach den Ansprüchen 1 bis 14, gekennzeichnet durch

- eine Grundplatte (1) und eine Deckplatte (2), die aus Kunststoff, Glas, Metall oder Silizium bestehen.

16. Verwendung der Mikrotiterplatte nach Anspruch 1 in der mikrobiologischen Diagnostik, der Blutgruppen-Serologie, der klinischen Chemie, der Mikroanalytik und der Prüfung von Wirkstoffen.

---

Hierzu 5 Seite(n) Zeichnungen

---

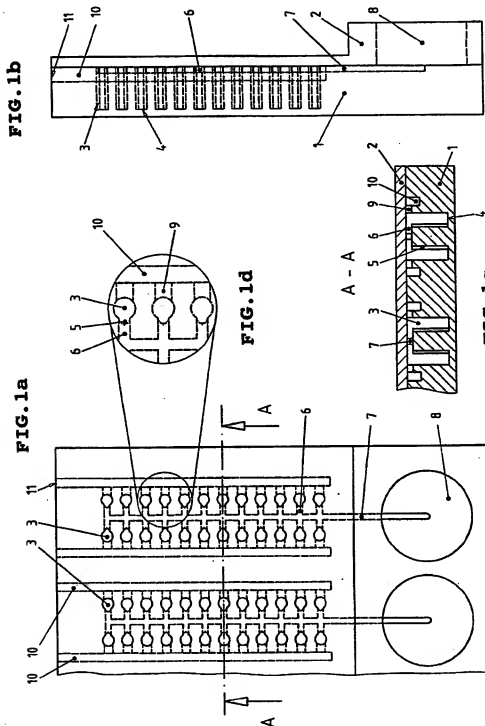
- Leerseite -



ZEICHNUNGEN SEITE 1

Nummer:  
Int. Cl. 8  
Offenlegungstag:

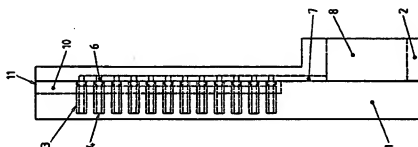
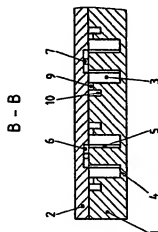
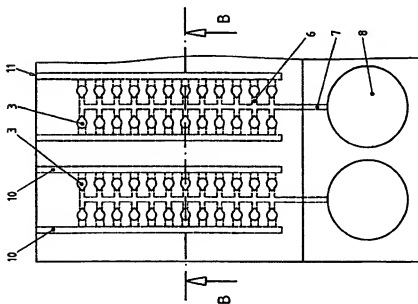
DE 198 10 499 A1  
B 01 L 3/00  
16. September 1999



ZEICHNUNGEN SEITE 2

Nummer:  
Int. Cl.<sup>8</sup>:  
Offenlegungstag:

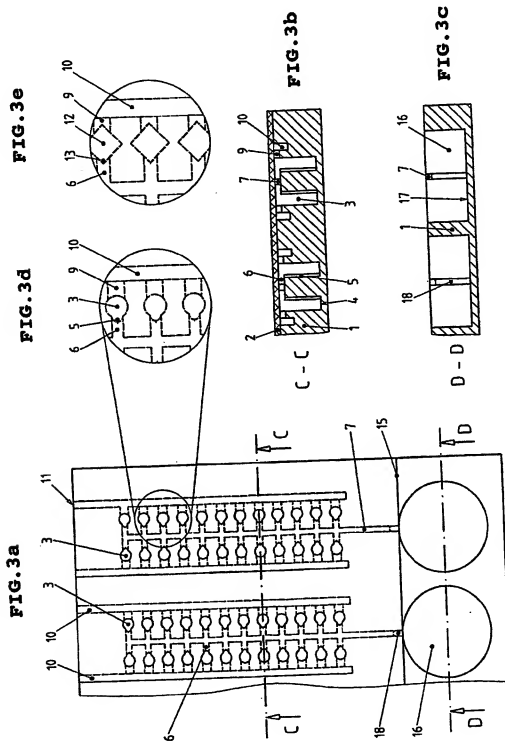
DE 198 10 499 A1  
B 01 L 3/00  
16. September 1999

**FIG. 2b****FIG. 2a****FIG. 2c**

ZEICHNUNGEN SEITE 3

Nummer:  
Int. Cl.<sup>A</sup>:  
Offenlegungstag:

DE 198 10 499 A1  
B 01 L 3/00  
16. September 1999



ZEICHNUNGEN SEITE 4

Nummer:

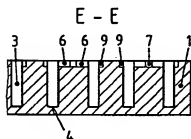
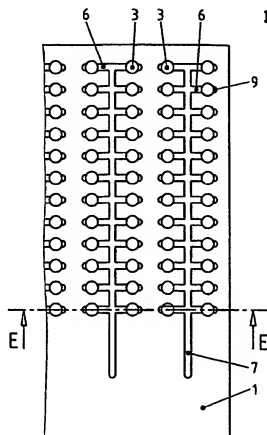
Int. Cl.<sup>8</sup>:

Offenlegungstag:

DE 198 10 499 A1

B 01 L 3/00

16. September 1999

**FIG. 4b**

ZEICHNUNGEN SEITE 5

Nummer:

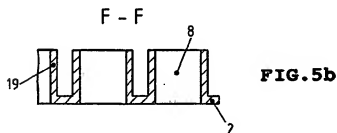
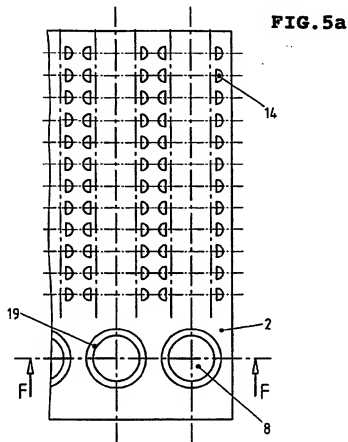
DE 198 10 499 A1

Int. Cl. 8:

B 01 L 3/00

Offenlegungstag:

16. September 1999



the invention concerns a micro titer plate, which is used for micro-biological investigations as well as medical analytics and diagnostics. The invention aims at to decrease the expenditure for the production of such micro titer plates and with their use. - in the micro-biological diagnostics become absorption -, dispersion and lumineszenzanalysen as optical procedures assigned, e.g. transmission -, fluorescence or truebungsmessungen. Micro titer plates or teststreifen from transparent plastic with a multiplicity of on one side open chambers or tassenfoermigen recesses are used. The plates or teststreifen have z. B. 32 or 96 chambers or recesses, which are occupied with a reagent. After inoculating with bacteria suspension the micro titer plates or teststreifen are sealed if necessary with a transparent foil or locked with a cover. The recesses have a fuellvolumen between 60 µl and 300 µl and by means of machine aids are individually filled; in addition pipettes with a channel or with 8, 48 or 96 channels are used. - from US 4,038,151 a probenplatte is well-known for an automated optical investigation procedure, which for proving and counting out suspended micro organisms serves and for determining its sensitivity to antibiotics. The plate consists of a rigid transparent plastic. There are about 60 mm wide, about 90 mm long and about 3 mm thickly and contain z. B. 20 conical sample chambers, which are distributed on a disk surface (without boundary regions) by approximately 25 cm<sup>2</sup>. Computational area requirements of each sample chamber amount to about 125 mm<sup>2</sup>. The cross-section area of the sample chambers is larger on the side of the plate than on the other side of the plate. Beside each sample chamber two ueberlaufkammern are attached, which are on the side of each sample chamber, on which a filling channel for the sample chamber concerned are. The sample chambers are connected by slots with the ueberlaufkammern. The sample chambers, the slots and the ueberlaufkammern extend over the entire thickness of the probenplatte. The sample chambers are by particularly arranged and formed and connected by groups on a side of the plate branched filling channels present with at least one filling chamber, which is locked with a septum. The filling channels occur at the larger side of the conical sample chamber tangential. The form and the surface of the cross section of each filling channel change in in each case a place precipitously. In these places - in

direction of flow seen - a flat and broad channel changes in each case into a deep and narrow channel. The filling channels located on a side of the plate can be longer than the shortest in each case connection between sample chamber and filling chamber, in order to make the ruckdiffusion more difficult from components existing in the suspension to. The plate stuck - up to a boundary region - on both sides with one semipermeable foil each, those together the sample chambers, the ueberlaufkammern, which and on side of the plate covers slots the attached filling channels as well as a side of the filling chamber. The sample chambers are occupied with a dried up layer of a test substance. On a side of the plate in the proximity of the disk edge figure-eight recesses are appropriate flat, into which for the marking of the probenplatte by machine readable numbers can be registered by hand. After evacuating all channels and chambers in the probenplatte which can be examined the suspension from outside of the plate container present by means of a Kanuele by the septum through of the edge of the plate into the filling chamber is led and flows by the filling channels into the sample chambers and into the ueberlaufkammern. The suspension flowed in into the sample chamber and the test layer are located in contact with the adhesive layer attached on the foil. During the optical investigation of the samples in the sample chambers the probenplatte stands vertically in the measuring instrument. In this situation the filling channels occur regarding the direction of the force of gravity from above the sample chambers, and the ueberlaufkammern lie above the sample chambers. Thus existing can collect themselves if necessary or with a reaction or a metabolism developing gas bubbles in the ueberlaufkammern, without disturbing the optical investigation of the samples in the sample chamber. From US 5,670,375 a probenplatte is well-known, whose is simultaneously inoculated up to 64 cavities. After air from the cavities was sucked off, the fluid which can be examined flows out of outside of the probenplatte container present by a connecting tube into the cavities and fills it. With increasing spreading and automation it investigation-proceeded more so necessarily to develop the micro titer plates further used so far. - with it the task places itself to indicate a micro titer plate which contains a larger number of sample chambers on a given disk surface than the well-known plates, which is to be manufactured

economically, which is to be handled simple, and which to the demands of the microbiology, to which as well as to the structure of the assigned measuring device is adapted to medical investigation technology. - the task solved according to invention by a micro titer plate, which consists of a baseplate and a cover plate, and which are characterized through - a multiplicity of sample chambers with a soil in the baseplate, - in each case a feed canal to each sample chamber, to which into the sample chamber flows, and whose other end into a connection channel flows, in each case is assigned to which a group by sample chambers and stands with a filler place in connection, and - in each case an exhaust range at each sample chamber, for which with a entlüftungsoeffnung in connection stands, - at least one entlüftungsoeffnung for each group of sample chambers, - at least one filler place, which is attached to at least one connection channel, and - a cover plate, which covers the open side of the sample chambers in the baseplate, and which with the baseplate between all sample chambers is liquid connected. The feed canal flows preferentially in radial direction into the sample chamber. In the wall each sample chamber can be attached an intake gutter, which begins at the end of the associated feed canal, and which preferentially up to the soil of the sample chamber reaches. The cross section of the intake gutter can decrease to the soil of the sample chamber. The feed canals and the connection channels can be in their whole either in the cover plate or in the baseplate attached, in each case in the side of the cover plate or the baseplate, which is course-turned the baseplate and/or the cover plate. Furthermore some channels in the cover plate and other channels can be attached in the baseplate, whereby the channels stand with one another after joining reason and cover plate in connection. The exhaust ranges are attached at the open end each sample chamber in the baseplate in each case. These ranges can stand with in each case a entlüftungsoeffnung in the cover plate in connection. Furthermore the exhaust ranges of a group can be connected by sample chambers by a vent hole, whose is open end at the edge of the micro titer plate and which forms entlüftungsoeffnung. A vent hole can be alone or together with other channels either completely in the baseplate, completely in the cover plate or partially in the baseplate and partially in the cover plate attached. At the end of an exhaust range



(seen in direction of flow) the passage area becomes precipitously larger. The vent hole can be deeper than the exhaust range. The walls of the sample chambers stand preferentially perpendicularly to the baseplate, it can however also be bent to the baseplate. In this case the cross section of the sample chambers is preferentially larger at the open end than at the soil. The sample chambers can round, have rectangular or polygonal cross section. The volume of each sample chamber can amount to from 0,01 to 10  $\mu\text{l}$ . The micro titer plate can contained from 50 to 10,000 sample chambers in the baseplate with up to 35 sample chambers per square centimeter disk surface. The feed canals have width and a depth of 10  $\mu\text{m}$  to 500  $\mu\text{m}$ . The connection channels have width and a depth of 10  $\mu\text{m}$  until 1000  $\mu\text{m}$ . The filler places can be appropriate in the baseplate or in the cover plate. Their volume can be larger than the volume of the connection channels attached to each filler place, the associated feed canals and the associated group of sample chambers. In this case it is sufficient to give the fluid quantity needed in each case at one time to the respective filler place. If the filler places are supplied in each case or continuously during the filling time of the sample chambers by portion with the fluid which can be examined, the volume can be smaller each filler place than it during a mark filling is necessary. It can be appropriate to plan in the wall of filler places, which are appropriate in the baseplate, in each case a discharge gutter which is enough from the soil of the filler place up to the delta of a connection channel into the filler place. The discharge gutter facilitates the practically complete transition of the fluid from the filler place to the connection channel. The micro titer plate can exist for transmitted light measurements of transparent material such as plastic or glass and for luminescence measurements of transparent or obscure material such as metal or silicon. Baseplate and cover plate can consist of the same or different material. The height of the sample chambers and thus the thickness of the fluid layer through-radiated by the light can be adapted to the optical analysis procedure. Within a micro titer plate sample chambers with different height can be present. - a typical micro titer plate according to invention (according to Fig. 1a to 1d) has a 3.5 mm thick baseplate and a 0.5 mm thick cover plate. The round sample chambers are 3.0 mm deeply, have a diameter of 800  $\mu\text{m}$  and a volume of 1,5 micro litres.

The feed canals and the connection channels have a rectangular cross section, the feed canals are 400  $\mu\text{m}$  broadly and 380  $\mu\text{m}$  deeply. The connection channels are 500  $\mu\text{m}$  broadly and 380  $\mu\text{m}$  deeply. The exhaust ranges are (with rectangular cross section) 420  $\mu\text{m}$  broadly and 380  $\mu\text{m}$  deeply. The vent holes are 500  $\mu\text{m}$  broadly and 1000  $\mu\text{m}$  deeply. On a disk surface (without boundary regions) of 21.5 mm  $\times$  25 mm, thus 540 mm of 2, are 96 at the same time fillable sample chambers. Computational area requirements of each sample chamber amount to thus 5.6 mm of 2. That corresponds to about 5% of computational area requirements of a sample chamber with a well-known micro titer plate. The fluid which can be examined (solution or suspension) is given to a micro titer plate consisting of baseplate with connected cover plate in a certain quantity to the filler place. The fluid flows due to the capillary strength by the connection channels and feed canals at the same time to all sample chambers, which with the filler place in connection, and by the if necessary existing intake gutter into the sample chamber. The capillary strength of the intake gutter can "out-suck" the fluid from the feed canal. As soon as the soil of the sample chamber is moistened, the capillary strength of the sample chamber is sufficient, in order to fill it completely. The current of the fluid is terminated, as soon as the fluid reached the exhaust range and the passage area of the following vent hole or the passage area of the entlüftungsoeffnung in the cover plate becomes precipitously larger. Thus the fluid quantity flowing in into each sample chamber adjusts itself automatically. During the filling procedure air contained in the channels and sample chambers is displaced and escapes by the entlüftungsoeffnung. After filling all sample chambers the feed canals can be welded shut in each case in the proximity of each sample chamber in a place, whereby all sample chambers are fluid-laterally separated. Thus diffusion is prevented by components of the fluid between the sample chambers with further treatment of the micro titer plate, e.g. with the Bebrueten of a bacteria suspension. If the micro titer plate is used for the investigation of a bacteria suspension, which is bebruetet after filling into the sample chambers, preferentially a entlüftungsoeffnung can be planned for each sample chamber, which serves the bacteria suspension with oxygen for supplying. When other investigations, with which no reaction gases develop,

the exhaust ranges of a group can be connected by sample chambers with in each case a entlueftungsoeffnung, and after which the entlueftungsoeffnung and the filler place know a filling of the sample chambers are additionally welded, whereby the micro titer plate is hermetically locked. The structured baseplate and if necessary the structured cover plate of the micro titer plate can from plastic, as polystyrene or polymethyl metacrylate is manufactured in each case, by casting a moulding form in the micro injection moulding procedure. The structure of the moulding form is complementary for the structure of the structured baseplate or the structured cover plate. The moulding form can be manufactured by lithography and Galvanoformung, by micro eroding or by micromechanical treatment such as diamond millings. Further can the structured baseplate and if necessary the structured cover plate from a photo-corrodable glass (e.g. of the company Schott) or from silicon by anisotropic corroding or by micromechanical manufacturing processes to be manufactured. Cover plate and baseplate connected at their contact surfaces with one another, e.g. by ultrasonic welding. All channels and sample chambers are gas-tight separated liquid and. - the micro titer plate according to invention has the following advantages: - you a substantial larger number of sample chambers with smaller volume of each sample chamber and a closer packing of the sample chambers contains in the plate than conventional plates. - is smaller you at given number of sample chambers than well-known plates. - you permits a larger sample throughput. - filling of the sample chambers with the fluid which can be examined goes faster and is simpler with smaller machine expenditure than with conventional plates. - to filling the sample chambers neither a positive pressure in the filler place still another negative pressure at the entlueftungsoeffnung are necessary. - the filler place is more simply built than well-known devices, with which the sample chambers are filled individually. - the filler places are filled by means of commercial devices, to which they are adapted after dimensions and volumes. - the taken off sample chambers are filled completely with the fluid which can be examined. The fuellvolumen of each sample chamber is automatically fixed; a metering unit for each individual sample chamber is not necessary. - the fluid in the sample chambers is effectively protected during a if necessary further treatment and

during the measurement by the cover plate connected closely with the baseplate against evaporating. - at the two soils of the sample chambers no adhesive layer is present. - manufacturing costs are smaller than with conventional plates. - materials requirements for the allocation of the sample chambers with a reagent, the need of investigation material, e.g. bacteria suspension, blood tests or active substances, and thus the costs are smaller than with plates with larger volume of the sample chambers. - for the fluid which can be examined, e.g. a bacteria suspension, filler places can be planned, which are in the baseplate or in the cover plate, and into which several connection channels to flow if necessary. - the micro-biological, micro-chemical or bakteriologische investigation of the samples brought into the micro titer plate is fully automatable with decreased expenditure for the measuring instruments. - the micro titer plates can be stored at normal room temperature. The space requirement with the storage is clearly smaller than with conventional micro titer plates - the plates are, similarly to the well-known plates, for unique use certain. Because of the higher component density of the sample chambers too disposing the quantity of used micro titer plates is smaller than on use of conventional micro titer plates. The sample chambers in the micro titer plate can be occupied by means of an adapted miniaturized device with one chemically or biologically effective reagent, which is dried up after bringing in the test fluid and on the soil and on the walls of the sample chambers clings. As reagents for example Oligopeptid  $\beta$  Well derivatives, p-Nitrophenylderivate, sugar for fermentation and other can be used investigations, organic acids, amino acids for assimilation investigations, Decarboxylase of substrates, antibiotics, Antimycotica, fertile soils, marker substances, indicator substances and other substances. And if necessary the micro titer plate according to invention occupied with reagent can be used for the biochemical proof and the sensitivity examination by clinically important micro organisms. In a fully automated and miniaturized system a defined suspension is manufactured by micro organisms, with which the micro titer plate is fed. The inoculated plate is measured - if necessary after a further treatment - by means of an optical procedure. The results received thereby are computer aided seized and evaluated and judged by means of adapted procedures mathematically. The micro titer

plate according to invention can in the group of bloods Serologie, which clinical chemistry, with the micro-biological proof by micro organisms, with the examination of the sensitivity of micro organisms to antibiotics, in micro analytics as well as with the examination by active substances are used. - the micro titer plate according to invention is continued to describe on the basis the following figures. - Fig. 1a shows a cutout from a micro titer plate seen from above by the cover plate through. This cutout contains two groups of sample chambers (3), whereby in each case 24 sample chambers are attached over one feed canal each (6) to a connection channel (7). Each connection channel extends up to the center of a filler place (8). Beside each sample chamber (3) preferentially an exhaust range (9) is appropriate in relation to the delta of the feed canal (6). The exhaust ranges of a group of sample chambers stand with in each case a vent hole (10) in connection. The end of each vent hole (10) is the entlüftungsoffnung (11) at the edge of the baseplate. - Fig. 1b shows the micro titer plate in accordance with Fig. 1a in side view. The baseplate (1) is covered with the graduated cover plate (2). The baseplate contains sample chambers (3) with soil (4) as well as in their the cover plate turned side of feed canals (6) and connection channels (7). The cover plate (2) contains filler places (8) in its thicker part, which penetrate this part of the cover plate in their entire thickness. After joining reason and cover plate the connection channels (7) with the filler places (8) in connection stand. The vent hole (10) flows in the entlüftungsoffnung (11) at the edge of the baseplate. - Fig. 1c shows a cross section by the micro titer plate to in Fig. 1a with A-A marked line. Sample chambers (3) with soil (4) are represented, connection channels (7), feed canals (6) as well as intake gutters (5) in the baseplate (1). In relation to the delta of the feed canal (6) the exhaust range (9) is appropriate, which stands with the vent hole (10) in connection. - Fig. 1d shows a sample chamber (3), a feed canal (6), an intake gutter (5), an exhaust range (9) and a vent hole (10) in increased representation from above seen. - Fig. 2a shows a cutout from another execution form of the micro titer plate seen from above by the cover plate through. Are represented sample chambers (3), feed canals (6), connection channels (7) and filler places (8). With this execution form the connection channels (7) up to the edge of the filler places (8) are enough. The exhaust

ranges of a group of sample chambers (3) are connected with in each case a vent hole (10), which flows at the edge of the baseplate in the entlüftungsoffnung (11). - Fig. 2b shows the micro titer plate in accordance with Fig. 2a in side view. The baseplate (1) is covered with the graduated cover plate (2). The baseplate contains 4 provided sample chambers (3) with a soil (. The cover plate contains in their the baseplate turned side of feed canals (6) and connection channels (7) as well as in their thicker part of filler places (8), which penetrate this part of the cover plate in their entire thickness. After joining reason and cover plate each feed canal with in each case a sample chamber stands in connection. The vent hole (10) flows at the edge of the baseplate in the entlüftungsoffnung (11). - Fig. 2c shows a cross section by the micro titer plate to in Fig. 2a with B-B marked line. Sample chambers (3) with soil (4) are represented, connection channels (7), feed canals (6), intake gutters (5), exhaust ranges (9) and vent holes (10). - Fig. 3a shows a cutout from a further execution form of the micro titer plate seen from above by the cover plate through. Are represented sample chambers (3), feed canals (6), connection channels (7) and filler places (16). With this execution form the connection channels (7) up to the edge of the filler places are enough. The cover plate extends in this case up to the line (15); it covers the part of the micro titer plate, which contains sample chambers, feed canals and connection channels. At the delta of the connection channel (7) into the filler place (8) a discharge gutter (18) follows in the wall of the filler place, which reaches up to the soil of the filler place. The vent holes (10) flow in the entlüftungsoffnung (11) at the edge of the baseplate. - Fig. 3b shows a cross section by the micro titer plate to in Fig. 3a with CC marked line. Baseplate (1) and cover plate (2) are represented, which are in this case a foil. The baseplate contains with a soil (4) provided sample chambers (3) with intake gutters (5) as well as feed canals (6), connection channels (7), exhaust ranges (9) and vent holes (10). - Fig. 3c shows cross section by the micro titer plate to in Fig. 3a with dd marked line. The baseplate (1) contains 17 provided filler places (16) with a soil (, in whose wall a discharge gutter (18) is attached, which is enough from the soil of the filler place up to the inlet of the connection channel (7) into the filler place. - Fig. 3d shows similarly to Fig. 1d in increased representation from above seen a sample

chamber (3), a feed canal (6), an intake gutter (5), an exhaust range (9) and a vent hole (10). - Fig. 3e shows another execution form of the sample chamber in increased representation seen from above similarly to Fig. 3d. The sample chamber (12) has a square cross section. The intake gutter (13) is formed by an edge of the sample chamber. The exhaust range (9) stands with the vent hole (10) in connection. - Fig. 4a shows a cutout from a further execution form of the micro titer plate. Here the opinion of the not taken off baseplate from above is represented seen. The baseplate (1) contains sample chambers (3), feed canals (6) and connection channels (7) as well as exhaust ranges (9), which are appropriate in the range of the top margin of the sample chamber. With this execution form no intake gutter is intended in the wall of the sample chamber. - Fig. 4b shows a cross section by the baseplate to in Fig. 4a with E-E marked line. Are represented with soil (4) provided sample chambers (3), feed canals (6), connection channels (7) and exhaust ranges (9). - Fig. 5a shows from above seen the opinion of the cover plate for in Fig. 4a represented baseplate. This cover plate (2) contains openings (14) and filler places (8), which protrude as cylinders (19), open at both ends, from the cover plate. - Fig. 5b shows a cross section by the cover plate to in Fig. 5a with FF marked line. Filler places (8) are represented, which protrude as cylinders (19), open at both ends, from the cover plate (2). After joining a baseplate in accordance with Fig. 4a with a cover plate in accordance with Fig. 5a are located the connection channels (7) in the baseplate with filler places (8) in the cover plate in connection. Furthermore the exhaust ranges (9) in the baseplate with openings (14) in the cover plate are located in connection. --- 1st micro titer plate, consisting of a baseplate (1) and a cover plate (2), characterized through --- a multiplicity of sample chambers (3) with a soil (4) in the baseplate, and - - in each case a feed canal (6) to each sample chamber, that into the sample chamber (3; ) flows to 12, and whose flows other end into a connection channel (7), that in each case a group is assigned by sample chambers and with a filler place (8; ) in connection is located to 16, and - - in each case an exhaust range (9) at each sample chamber, and - - at least one entlüftungsoeffnung (11; 14) for each group of sample chambers, which stands with at least one exhaust range (9) in connection, and - - at least one filler place (8; 16), which is attached to at

least one connection channel (7), and - - a cover plate (2), which takes the open off side of the sample chambers in the baseplate, which extends at least over the range of the micro titer plate, in itself sample chambers (3), feed canals (6) and connection channels (7) find, and which is liquid connected with the baseplate (1) between all sample chambers. - 2nd micro titer plate according to requirement 1, characterized through - - an intake gutter (5; 13) in the wall of each sample chamber (3), whereby each intake gutter (5; 13) at the end of a feed canal (6) begins and prefers up to the soil of the sample chamber reaches. - 3rd micro titer plate according to the requirements 1 and 2, characterized through - - a feed canal (6), which flows in radial direction into the sample chamber (3). - 4th micro titer plate according to the requirements 1 to 3, characterized through - - a discharge gutter (18) in the wall of each filler place (16), which is appropriate in the baseplate (3), whereby the discharge gutter (18) of the soil (17) reaches to the filler place up to the delta of a connection channel (7) into the filler place. - 5th micro titer plate according to the requirements 1 to 4, characterized through - - feed canals (6) and connection channels (7) in the side of the cover plate (2), which is course-turned the baseplate (1). - 6th micro titer plate according to the requirements 1 to 4, characterized through - - feed canals (6) and connection channels (7) in the side of the baseplate (1), which is course-turned the cover plate (2). - 7th micro titer plate according to the requirements 1 to 6, characterized through - - entlueftungsoeffnungen (14) in the cover plate (2), which the cover plate penetrate, and which with the exhaust range (9) at in each case a sample chamber (3) in the baseplate in connection are located. - 8th micro titer plate according to the requirements 1 to 6, characterized through - - at least one vent hole, which interconnects all exhaust ranges (9) to a group of sample chambers (3), and whose end at the edge of the micro titer plate is open and which forms entlueftungsoeffnung, - whereby the passage area of the vent hole is larger than the passage area of an exhaust range. - 9th micro titer plate according to the requirements 1 to 6, characterized through - - at least one vent hole (10) in the baseplate (1), which all exhaust ranges (9) a group of sample chambers (3) interconnects, and whose end at the edge of the baseplate (1) is open and which forms entlueftungsoeffnung (11), - - whereby the passage



area of the vent hole (10) is larger than the passage area of an exhaust range (9). - 10. Micro titer plate according to the requirements 1 to 6, characterized through - - - at least one vent hole, which is attached in the cover plate partially in the baseplate and partially and which all exhaust ranges (9) of a group of sample chambers (3) interconnects, and whose end at the edge of the baseplate and/or at the edge of the cover plate is open and which forms entlüftungsoeffnung, - whereby the passage area of the vent hole is larger than the passage area of an exhaust range. - 11. Micro titer plate according to the requirements 1 to 10, characterized through - - - sample chambers (3), their walls perpendicularly to the baseplate stand, - - sample chambers (3) with round, rectangular or polygonal cross section, - - sample chambers (3) also a volume of in each case 0.01 micro litres up to 10 micro litres. - 12. Micro titer plate according to the requirements 1 to 11, characterized through - - - 50 to 10,000 sample chambers (3) in the baseplate. - 13. Micro titer plate according to the requirements 1 to 12, characterized through - - - feed canals (6) with width of 10  $\mu\text{m}$  to 500  $\mu\text{m}$  and a depth of 10  $\mu\text{m}$  to 500  $\mu\text{m}$  and - - connection channels (7) with width of 10  $\mu\text{m}$  until 1000  $\mu\text{m}$  and a depth of 10  $\mu\text{m}$  until 1000  $\mu\text{m}$ . - 14. Micro titer plate according to the requirements 1 to 13, characterized through - - - filler places (8; 16) with a volume, that at least in each case the volume of the attached connection channels (7), which corresponds associated feed canals (6) and the associated group of sample chambers (3). - 15. Micro titer plate according to the requirements 1 to 14, characterized through - - - a baseplate (1) and a cover plate (2), those of plastic, glass, metal or silicon consist. 16. Use of the micro titer plate according to requirement 1 in the micro-biological diagnostics, the Blutgruppen Serologie, clinical chemistry, micro analytics and the examination of active substances.

Search the web with this text